

[課程? 2]

## 審査の結果の要旨

氏名 馮 雪

本研究はキネシンスーパーファミリー (kinesin superfamily proteins, KIFs) のメンバーの1つであるモーター分子 KIF17 の生体内での役割及び細胞内での分子機能を明らかにするため、3種の kif17 変異トランスジェニック・マウス系統を作成し、各々表現型を解析したものであり、下記の結果を得ている。

1. KIF17 は Mint1 との結合を介して NMDA 受容体のサブタイプ 2B (NR2B) を輸送する (Setou et al. Science 2000)。これまでの In vitro の実験結果により KIF17 と Mint1 の結合は KIF17 C 末ドメイン (Cargo-binding domain) のリン酸化によって制御されていることが想定されていた (Guillaud et al. Nat Cell Biol. 2008)。そこで私は KIF17 遺伝子の C 末ドメインに変異を導入し、リン酸化された状態に相当する KIF17 (S1029D)、リン酸化されていない状態に相当する KIF17 (S1029A) のそれぞれに GFP を融合させた 2 種の変異遺伝子ベクターを作成した。これらの変異遺伝子を前脳特異的に発現するトランスジェニック・マウス (TgA と TgD) および正常 KIF17 に GFP を付加した遺伝子を発現するトランスジェニック・マウスを作成した (TgS)。これらのトランスジェニック・マウス系統を kif17 遺伝子欠損マウスと交配し、endogenous の KIF17 をノックアウトした遺伝子背景を持つトランスジェニック・マウス系統とした (TgS/kif17<sup>-/-</sup>、TgA/kif17<sup>-/-</sup>、TgD/kif17<sup>-/-</sup>)。
2. GFP-KIF17 (S1029D) が Mint-1/NR2B 複合体に結合しないこと、GFP-KIF17 (S1029A) および GFP-野生型 KIF17 が Mint-1/NR2B 複合体に結合することを免疫沈降実験で確認した。
3. KIF17 ノックアウトマウスは NR2B のシナプスへの集積の低下、シナプス可塑性 (海馬 CA1 領域の長期増強) の減弱、および空間記憶の障害を示す (Yin et al., Neuron, in press)。TgS/kif17<sup>-/-</sup> マウスでは、NR2B シナプス集積、長期増強、空間記憶いずれも野生型マウスと同程度のレベルに回復しており、GFP-野生型 KIF17 の発現による遺伝子レスキューが示された。
4. KIF17 ノックアウトマウスおよび TgD/kif17<sup>-/-</sup> マウス海馬ニューロンでは、NR2B のレベルは樹状突起でもシナプス領域でも低下しており、ゴルジ領域で逆に増加していた。これは、Golgi 体から樹状突起への輸送が低下していることを示唆する。一方、TgA/kif17<sup>-/-</sup> マウス海馬ニューロンでは、NR2B は樹状突起シャフトに局在するが、シナプス領域の NR2B は低下していた。すなわち、NR2B は樹状突起シャフトまで輸送されているが、シナプスへの移行が阻害されていることがわかった。

5. KIF17 ノックアウトマウスおよび TgA/kif17<sup>-/-</sup> と TgD/kif17<sup>-/-</sup> トランスジェニック・マウスはいずれも海馬 CA1 長期増強低下と空間記憶獲得障害を示した。
6. NMDA 受容体活性化によって惹起される CREB リン酸化が KIF17 ノックアウトマウス、TgA/kif17<sup>-/-</sup> と TgD/kif17<sup>-/-</sup> トランスジェニック・マウスで低下していた。
7. KIF17 ノックアウトマウス、TgA/kif17<sup>-/-</sup> と TgD/kif17<sup>-/-</sup> トランスジェニック・マウスでシナプスの NR2A のレベル低下が観察された。
8. 以上より KIF17 ノックアウトマウス、TgA/kif17<sup>-/-</sup> と TgD/kif17<sup>-/-</sup> トランスジェニック・マウスでは、NR2B および NR2A のシナプスでのレベル低下の結果、CREB 依存的神経可塑性の減弱と学習・記憶障害をきたしていると考えられる。KIF17 ノックアウトマウスにおける NR2A の低下の原因は、NR2A 蛋白分解の亢進によることが既にあきらかにされている (Yin et al., Neuron, in press) が、TgA/kif17<sup>-/-</sup> と TgD/kif17<sup>-/-</sup> トランスジェニック・マウスについては今後の検討課題である。
9. 本論文は新しく作成した 3 系統のトランスジェニック・マウスのシステムティックな解析により in vivo の神経回路網に於いてモーター分子 (KIF17) と Cargo (Mint1/CASK/VELI/NR2B) の相互作用のリン酸化ベースの制御が学習・記憶に重要な役割を果たしていることをはじめて明らかにした。本研究は学習・記憶の基礎的メカニズムの理解に重要な貢献をなすものであり、学位の授与に値すると考えられる。